

УДК 611.12-034:591.33-092.9

**Шаторна В.Ф., Гарець В.І., Нефьодова О.О**

## **ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КОМБІНОВАНОГО ВПЛИВУ АЦЕТАТУ СВИНЦЮ ТА ЦИТРАТУ СРІБЛА НА КАРДІОГЕНЕЗ ЩУРІВ**

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

*Метою дослідження було визначення морфогенетичних закономірностей формування ефектів ізолюваного впливу ацетату свинцю та комбінованої дії ацетату свинцю з цитратом срібла, отриманого за аквананотехнологією на розвиток серця зародків щурів в експерименті. При ізолюваному введенні ацетату свинцю визначалась його токсична дія на кардіогенез в зменшенні середніх показників маси серця ембріонів, зменшенні товщини компактного міокарду стінки шлуночку серця, в витонченні різних частин міжшлуночкової перегородки. Спостерігалась також затримка розвитку міокарда передсердь на тлі збільшення об'єму та зменшенні товщини стінок передсердь. При комбінованому введенні ацетату свинцю та цитрату срібла визначається зменшення кардіотоксичності ацетату свинцю за всіма означеними показниками, що дає можливість розглядати цитрат срібла як біоантогоніст ацетату свинцю щодо впливу на кардіогенез у щурів.*

Ключові слова: кардіогенез, ацетат свинцю, цитрат срібла, ембріогенез, серце.

Дослідження виконано у рамках науково-дослідної роботи » «Морфогенетичні закономірності ембріогенезу під впливом нанометалів» (№ державної реєстрації 0115U004879).

### **Вступ**

Вплив промислового забруднення довкілля на організм людини в комплексі з дією інших шкідливих факторів призводить до виникнення або загострення різних захворювань, що кваліфікуються в сучасній науці як екологічна патологія. Проблема екологічної детермінованості здоров'я населення є однією з найбільш актуальних проблем сучасності. В нашій країні на сьогоднішній день спостерігаються виражені процеси депопуляції населення, основними причинами якої є зниження народжуваності та підвищення смертності, обумовлені як соціальними, так і екологічними факторами. При цьому вченими та практичними лікарями, як правило, аналізуються лише клінічні аспекти проблеми, в той час як її екологічна та морфологічна складова залишається поза увагою.

Не дивлячись на значні досягнення в діагностиці та лікуванні багатьох захворювань серцево-судинної системи, існує тенденція до їх зростання в Україні як у дорослих, так і у дітей [1, 2]. За останні 25 років кардіоваскулярна патологія серед населення України виросла в 3 рази, а за даними Всесвітньої ліги серця Україна займає одне з перших місць серед держав Європи по рівню смертності від хвороб кровообігу та інсультів [1]. Результати численних досліджень підтверджують, що однією з етіопатогенетичних причин серцево-судинних хвороб може бути вплив екологічних факторів: викиди промислових підприємств та автотранспорту, хімізація сільського господарства, використання барвників, консервантів та інших хімічних домішок у виробництві продуктів харчування [3, 9].

Серед багатьох негативних факторів навколишнього середовища, що впливають на здоров'я населення, одне з найважливіших місць посідає хімічне забруднення важкими металами, серед яких найпоширенішим є свинець. В останнє сторіччя прогресує накопичення свинцю в ґрунті, атмосферному повітрі та воді, що може

мати незворотні наслідки для людства. Рядом експериментальних робіт сучасних українських вчених, таких як Трахтенберг І.М., Зербіно Д.Д., показано, що свинець має високий тропізм до ендотелію судин, викликаючи в ньому структурні зміни, які зумовлені його прямим впливом безпосередньо на внутрішньоклітинні ультраструктури. Ці зміни призводять до порушень транспортної, метаболічної, синтетичної, адгезивної функцій клітин і сприяють розвитку судинної патології, яка супроводжується порушеннями гемореології і мікроциркуляції [4-7, 16]. Аналіз результатів проведених експериментів групи дослідників на чолі з професором Д.Д. Зербіно дозволив зробити припущення неповноцінного лікування захворювань серцево-судинної системи без урахування впливу на організм сполук свинцю. Автор наполягає, що стратегія лікування таких патологій як васкуліти, ангіопатії, інфаркти повинна враховувати вплив сполук свинцю не як фактор ризику, а як важливий етіологічний стимул розвитку серцево-судинних захворювань [6-8]. Експериментальними дослідженнями показано, що при введенні свинцю низької концентрації дослідним тваринам, відбувається підвищення його рівня в крові, збільшення до- і післяімплантаційної загибелі ембріонів та виникають структурно-метаболічні порушення в органах плодів, що супроводжується затримкою їх росту і диференціювання [3, 15, 17]. Тому важливим є пошук шляхів захисту від негативного впливу низьких доз свинцю на організм в цілому та репродуктивну систему зокрема.

В сучасних медичних дослідженнях та практиці досить широко використовуються нанопрепарати, препарати з наночастинками срібла широко застосовують у хірургії завдяки його бактерицидним та фунгіцидним властивостям [19]. Об'єкти нанорозмірів надзвичайно реакційно активні, оскільки мають велику питому поверхневу енергію, тому наночастинки легко можуть агрегувати одна з одною та з мембранами клітин,

взаємодія з білками, тими або іншими речовинами в зовнішньому середовищі і так далі [10-12]. Недостатньо вивченим залишається питання впливу наночасток на організм та на процес ембріонального розвитку. Не визначеними на сьогодні залишаються і питання можливого антагонізму чи синергізму нанорозмірних металів по відношенню до дії на організм ацетату свинцю [13, 14, 18, 19].

Безпосереднє спостереження за формуванням порушень розвитку у людини неможливо, тому за допомогою індукованих експериментальних моделей стає можливим аналіз морфогенетичних змін протягом ембріогенезу під впливом досліджуваних чинників.

#### **Мета дослідження**

Визначення морфогенетичних закономірностей формування ефектів ізолюваного впливу ацетату свинцю та комбінованої дії ацетату свинцю з цитратом срібла, отриманого за аквананотехнологією на розвиток серця зародків щурів в експерименті.

#### **Матеріал і методи дослідження**

Експериментальні дослідження були проведені на самицях щурів лінії Wistar (розплідник «Далі», м. Київ). Утримання експериментальних тварин здійснювалося відповідно до санітарно-гігієнічних норм віварію ДЗ «ДМА МОЗ України» (температура повітря:  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , світлий/темний цикл: 12/12 годин, їжа та пиття *ad libitum*). Усі досліді проводили у відповідності до законодавства України [Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» / Відомості Верховної Ради України. – 2006. - № 27. – с.230], правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.]. Комісією з біоетики Дніпропетровської державної медичної академії (протокол №1 від 22 січня 2015 р.) встановлено, що проведені наукові дослідження зародків експериментальних тварин відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01.11.2000 року.

Всі щури були розділені на 3 групи: 1 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05мг/кг, 2 група – тварини, яким вводили розчин ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг та розчин цитрату срібла у дозі 2мкг/кг; 3 група - контрольна. В експериментальних моделях використовували розчини цитрату, срібла, золота, заліза, отриманих за аквананотехнологією Розчини цитратів нанометалів отримували згідно договору про наукову співпрацю в НДІ Нанобіотехноло-

гій та ресурсозбереження України (м. Київ). Впливу зазначених чинників самок щурів піддавали з 1-го по 19-й день вагітності. Результати впливу досліджуваних чинників на ембріогенез та репродуктивну систему самиць оцінювали після евтаназії під наркозом тіопенталу натрію самиць на 20 день вагітності.

Для визначення впливу ацетату свинцю на хід кардіогенезу проводили вилучення серця у фіксованих нейтральним формаліном ембріонів щурів. Серце досліджували спочатку макроскопічно – під біокулярною лупою: проводили розрізи горизонтальні та сагітальні для визначення відповідності розвитку органа стадії розвитку ембріона: визначали стан розвитку камер серця та міжшлуночкової перегородки та внутрішнього рельєфу шлуночків. Також виготовляли серійні гістологічні зрізи для визначення змін на гістологічному рівні.

#### **Результати досліджень та їх обговорення**

Як результат токсичної дії ацетату свинцю при ізолюваному введенні на кардіогенез в експерименті виявлялось зменшення середніх показників маси серця ембріонів з  $35,33 \pm 1,03\text{мг}$  в нормі до  $32,45 \pm 1,08\text{мг}$  в групі свинцевої інтоксикації.

Кардіотоксичність ацетату свинцю у щурів в експерименті визначалась у зменшенні товщини компактного міокарду стінки шлуночка серця з  $201,6 \pm 8,3\text{ мкм}$  до  $179,1 \pm 12,3\text{ мкм}$  ( $p < 0,05$ ). Також визначалось збільшення об'єму та зменшення товщини стінок передсердь із затримкою утворення та розвитку міокарда передсердь. В наших дослідженнях ми спостерігали витончення різних частин міжшлуночкової перегородки: апікальна частина з  $490 \pm 15,74\text{мкм}$  до  $432 \pm 15,89\text{ мкм}$ , середня частина з  $447 \pm 16,67\text{мкм}$  у контролі до  $412 \pm 15,69$ , базальна частина – з  $439 \pm 14,88\text{мкм}$  до  $417 \pm 13,45\text{мкм}$ , що також свідчить про кардіотоксичний ефект ацетату свинцю.

Вплив ацетату свинцю також відбивався на формоутворюючих процесах стулок півмісяцевих заслінок крупних судин в порівнянні до контролю, а саме - ми спостерігали формування аномальних за формою стулок, що безумовно, призводило до порушення гемодинаміки серця. Введення ацетату свинцю відбивалось на порушенні базових гістогенетичних процесів серця, що розвивається. Порушення процесів делямінації та компактизації міокарду шлуночків призводило до зсувів процесу утворення трабекулярного шару міокарду шлуночків та закладки і утворення клапанів передсердно-шлуночкових отворів: укорочення стулок, зміна вмісту та обсягу передсердно-шлуночкових клапанів супроводжувалась утворенням додаткових аномальних сухожилкових струн, що прикріплювались не до краю стулки, а до її нижньої поверхні. Нами зу-

стрічалися потовщення крайової поверхні стулки за рахунок розростання мезенхімних клітин (рис. 1).

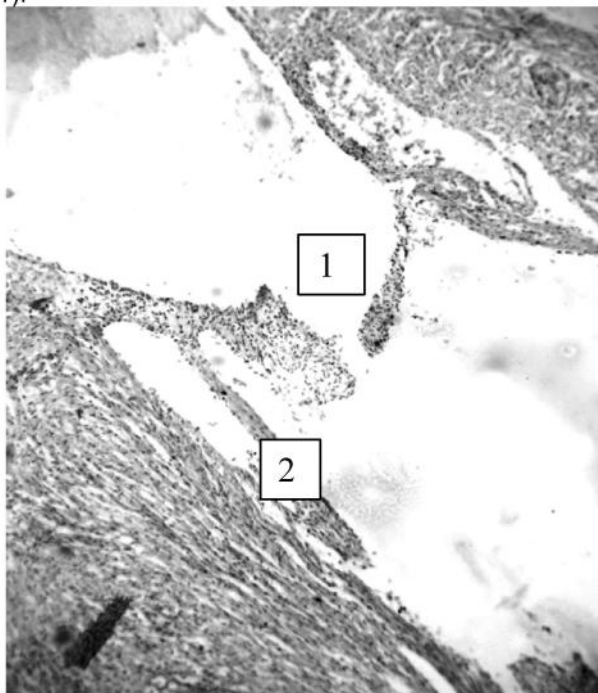


Рис. 1. Мікрофотографія стулок передсердно-шлуночкового клапану серця ембріона щура в групі свинцевої інтоксикації. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.10.

Позначення: 1 - Стулки клапанів; 2 - Аномальна сухожилкові нитка, що кріпиться до нижньої поверхні стулки.

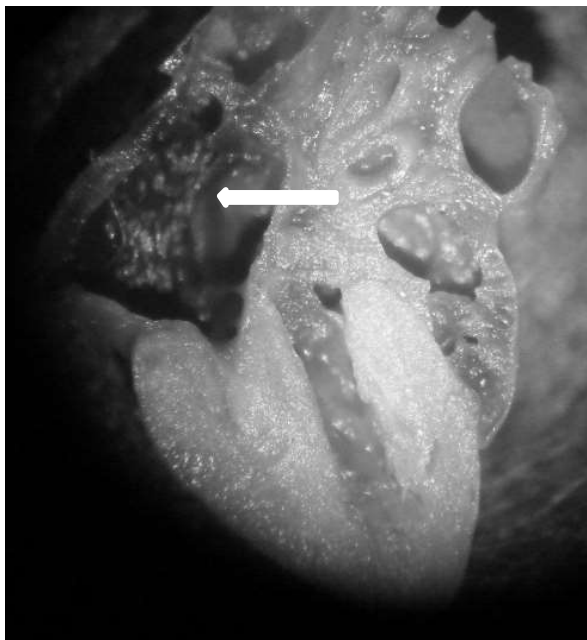


Рис. 2. Розріз фіксованого серця ембріона експериментальної групи комбінованого впливу ацетату свинцю + цитрат срібла. Розширені передсердя вказано стрілкою.

В групі комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла визначалось гіпертрофічне збільшення обсягу передсердь, при цьому спостерігалось розширення аорти та легеневого

стовбура в місцях відходження вказаних структур від серця (рис. 2). Збільшення передсердь супроводжувалось також гіпертрофічним розростанням сполучної навколосерцевої тканини та формуванням лакун з чітко визначеними краями (рис. 2). Такі дані відповідають результатам наукових досліджень [6, 15], в яких визначено, що важкі метали, такі як ртуть, сурма і срібло, є індукторами утворення вільних радикалів в уражених тканинах серця, підвищення концентрації цих мікроелементів в міокарді призводить до збільшення в ньому кількості фіброзної тканини.

Досліджуючи розвиток передсердь серця ембріона щура в експериментальній групі комбінованого впливу на гістологічному рівні ми спостерігали локальне потовщення міокардіального шару в 38,7% випадків (рис. 3). Гребенясті м'язи передсердь були потовщені, що підсилювало контрактильність стінок передсердь серця.

В серцях ембріонів групи свинцевої інтоксикації ми зустрічали витончення стінки передсердь та затримку формування трабекул, або навпаки - збільшення кількості та поліморфність трабекул. Особливість впливу цитрату срібла на токсичність ацетату свинцю при комбінованому введенні пояснюється специфічною дією сполук срібла на стан судин у дослідженнях на дорослих людях. Виявлено, що хронічний вплив срібла або його солей визначається на товщині судин, а саме: судини м'язово-еластичного типу у відповідь на контакт зі сріблом потовщуються за рахунок розростання як сполучної тканини, так і м'язової. Передсердя є похідною венозного синусу, тому і відповідь з боку формоутворюючих процесів передсердь схожа на відповідь з боку судин (рис. 3), визначаються потовщення міокарда у вушках ембріонального серця.

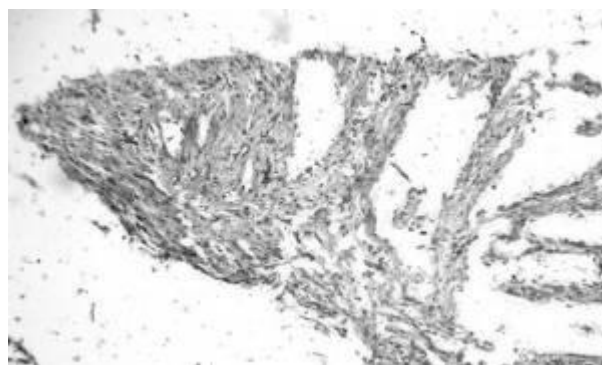


Рис. 3. Мікрофотографія стінки лівого передсердя серця ембріона щура в групі комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення: Ок.8 х об.40.

Порожнина передсердя групи комбінованого впливу була значно збільшена, стінка сформована, але потовщена, трабекули утворені широкими тяжами орієнтованого міокарда. Деякі тра-

бекули мали нетипову форму та розміри, різниці в показниках між правим і лівим передсердям ми не спостерігали. Вад формування міжпередсердної перегородки в групі комбінованого впливу ацетату свинцю та цитрату срібла ми не зустріли.

### Висновок

При ізольованому введенні ацетату свинцю визначалась його токсична дія на кардіогенез у зменшенні середніх показників маси серця ембріонів, зменшенні товщини компактного міокарду стінки шлуночка серця, у витонченні різних частин міжшлуночкової перегородки. Спостерігалась також затримка розвитку міокарда передсердь на тлі збільшення об'єму та зменшення товщини стінок передсердь.

При комбінованому введенні ацетату свинцю та цитрату срібла визначається зменшення кардіотоксичності ацетату свинцю за всіма означеними показниками, що дає можливість розглядати цитрат срібла як біоантогоніст ацетату свинцю щодо впливу на кардіогенез у щурів.

### Перспективи подальших досліджень

Отримані результати, на нашу думку, пов'язані із компенсаторним впливом цитратів металів на свинцеву токсичність, що потребує подальших гістологічних та морфологічних досліджень.

### Література

1. Волосовець О.П. Сучасні досягнення та проблеми дитячої кардіоревматологічної служби України / О.П. Волосовець // Здоров'я ребенка. — 2006. — № 1. — С. 914.
2. Глущенко Н.Н. Сравнительная токсичность солей и наночастиц металлов и особенность их биологического действия / Н.Н. Глущенко, О.А. Богословская, И.П. Ольховская // Известия Академии промышленной экологии. - 2006. - № 3. - С. 46-47.
3. Гнатейко О.З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О.З. Гнатейко, Н.С. Лук'яненко // Здоров'я ребенка. — 2007. — № 6 (9). — С. 8287.
4. Зербино Д.Д. Новая теория этиологии коронарной болезни у пациентов молодого возраста. / Д.Д. Зербино // Матеріали V конгресу кардіологів України 12-14 травня 1997 р. — 1996. — Додаток 3. — С. 45.
5. Зербино Д.Д. Новые данные о роли свинца в генезе сосудистой патологии / Д.Д. Зербино, Ю.А. Поспишиль // Акт. вопр. пат. анатомии: Сб. научн. трудов. — Харьков, 1990. — С. 108-110.
6. Зербино Д.Д. Свинец — этиологический фактор поражения сосудов: основные доказательства / Д.Д. Зербино, Т.М. Соломенчук, Ю.О. Поспишиль // Архив патологии. — 1997. — № 1. — С. 9-12.
7. Зербино Д.Д. Инфаркт миокарда в молодом возрасте: этиология и морфогенез / Д.Д. Зербино, Ю.А. Поспишиль // Лікарська справа. — 1993. — № 5-6. — С. 117-118.
8. Зербино Д.Д. Инфаркт миокарда: порівняльний аналіз етіологічних факторів / Д.Д. Зербино, Ю.А. Поспишиль // Доповіді Академії наук України. — 1992. - № 9. — С. 17-19.
9. Трахтенберг І.М. Книга про отрути та отруєння. Нариси токсикології / І.М. Трахтенберг [пер. з рос.]. — Тернопіль : ТДМУ, 2008. — 364с.
10. Москаленко В.Ф. Нанонаука, нанобіотехнології, наномедицина, нанофармакологія / В.Ф. Москаленко, І.С. Чекман, Н.О. Горчакова, Т.І. Небесна [та ін.] // Укр. наук.-мед. молодіжний журнал. - 2010. - №3. - С.9-16.
11. Лахтин В.М. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии / В.М. Лахтин, С.С. Афанасьев, М.В. Лахтин [и др.] // Вестн. РАМН. — 2008. — № 4. — С. 50-55.
12. Сердюк А.М. Нанотехнології мікронутрієнтів: питання безпечності та біотичності наноматеріалів при виробництві харчових продуктів / А.М. Сердюк, М.П. Гуліч, В. Г. Каплуненко, М.В. Косінов // Журнал АМН України. - 2010. - Т. 16, №3. - С. 467-471.
13. Савенкова О.О. Експериментальне визначення антагонізму біметалів при впливі на стан репродуктивної системи та ембріогенез щура / О.О. Савенкова // Вісник проблем біології і медицини. — 2013. — Т.2., Вип. 1. - С.259-265.
14. Савенкова О.О. Експериментальне дослідження ембріотоксичності ацетату свинцю окремо та в комбінації з наносріблом / О.О. Савенкова // Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка. - 2013. - № 19 (278). - С. 34-41.
15. Трахтенберг І.М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды / И.М. Трахтенберг // Довкілля та здоров'я. —1997. — № 2. — С. 48—51.
16. Трахтенберг І. М. Роль эндотелия в механизмах развития вазотоксических эффектов свинца / И. М. Трахтенберг, С. П. Луговской // Журнал АМН Украины. - 2005. — Т. 11, № 1. - С. 63-74.
17. Трахтенберг І. М. Свинцева небезпека в Україні / І. М. Трахтенберг // Науковий журнал МОЗ України. - 2013.— № 3. - С. 50-60.
18. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин / А.М. Сердюк, Э.Н. Белицкая, Н.М. Паранько, Г.Г. Шматов. — Днепропетровск : АРТ-ПРЕСС, 2004. — 148 с.
19. Чекман І.С. Нанофармакологія / І.С. Чекман. — К. : Задруга, 2011. — 424 с.

### Реферат

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АЦЕТАТА СВИНЦА И ЦИТРАТА СЕРЕБРА НА КАРДИОГЕНЕЗ КРЫС

Шаторная В.Ф., Гарец В.И., Нефедова Е.А

Ключевые слова: кардиогенез, ацетат свинца, цитрат серебра, эмбриогенез, сердце.

Целью исследования было определение морфогенетических закономерностей формирования эффектов изолированного воздействия ацетата свинца и комбинированного действия ацетата свинца с цитратом серебра, полученного по аквананотехнологии на развитие сердца зародышей крыс в эксперименте. При изолированном введении ацетата свинца определялась его токсическое воздействие на кардиогенез в уменьшении средних показателей массы сердца эмбрионов, уменьшении толщины компактного миокарда стенки желудочка сердца, в утончении различных частей межжелудочковой перегородки. Наблюдалась также задержка развития миокарда предсердий на фоне увеличения объема и уменьшении толщины стенок предсердий. При комбинированном введении ацетата свинца и цитрата серебра определяется уменьшение кардиотоксичности ацетата свинца по всем обозначенным показателям, что позволяет рассматривать цитрат серебра как биоантогонист ацетата свинца по влиянию на кардиогенез у крыс.

### **Summary**

EXPERIMENTAL EVALUATION OF COMBINED EFFECTS OF LEAD ACETATE AND CITRATE SILVER ON CARDIOGENESIS IN RATS

Shatorna V.F., Harets V.I., Nefedova O.O.

Key words: cardiogenesis, lead acetate, citrate silver, embryogenesis, heart.

Aim of the study was to determine the effects of morphogenetic patterns of the isolated impact produced by lead acetate and lead acetate combined action of silver citrate obtained by aqua-nano-technology on the development of heart fetuses of rats in the experiment. When lead acetate was introduced separately, its toxic effect on cardiogenesis was manifested by reducing the average weight of the heart embryos, reducing myocardial wall thickness of compact ventricle, the thinning of different parts of the interventricular septum. There was also a delayed development of atrial myocardium against the background of increased volume and decreased thickness of the atrial walls. Combined administration of lead acetate and citrate silver was characterised by reducing cardiotoxicity of lead acetate in all definite parameters that makes it possible to consider silver citrate as bio-antagonist for lead acetate by its influence on the cardiogenesis in rats.